



## ОЦЕНКА ЦИТОКИНОВОГО СТАТУСА У ПАЦИЕНТОВ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА, ИНФИЦИРОВАННЫХ COVID-19

Аслонова Маржона Рамазоновна

Бухарский Государственный медицинский институт им. Абу Али ибн Сина [aslonovam93@gmail.com](mailto:aslonovam93@gmail.com)

**Ключевые слова:** SARS CoV-2, пневмония, сахарный диабет 2 типа, пневмония, цитокин

**Резюме:** Коронавирусная болезнь 2019 года (COVID-19) — это недавно признанное инфекционное заболевание, вызванное тяжелым острым респираторным синдромом коронавирусом 2 (SARS-CoV-2), которое недавно было объявлено пандемией. Наиболее уязвимыми в данных условиях оказались пациенты с сахарным диабетом (СД) вследствие особенностей состояния их иммунного статуса и иммунного ответа на вирусную атаку, вследствие чрезмерно высокой активности вируса в условиях гипергликемии, вследствие коморбидности и ожирения, которые часто сопутствуют течению СД.

В исследование было включено 103 пациентов, госпитализированных с диагнозом SARS-CoV-2 пневмонии и сахарным диабетом в Бухарской областной инфекционной больнице, которую переорганизована в Ковид-центр 2021-2022 гг. Изучении показателей цитокинового (ИЛ-4, ИЛ-18) статуса в крови больных проводились в лаборатории иммуноморфологии института иммунологии и геномики человека АН РУз.

Результаты показали увеличение синтеза IL-4 у пациентов всех групп в отличие от контрольной группы. В исследовании установлено повышение уровня IL-18 в крови у пациентов не зависимо от степени тяжести ковид пневмонии и наличия СД.

**ASSESSMENT OF CYTOKINE STATUS IN PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES MELLITUS INFECTED BY COVID-19**

Aslonova Marjona Ramazonovna

**Bukhara State Medical Institute named after Abu Ali ibn Sina**[aslonovam93@gmail.com](mailto:aslonovam93@gmail.com)**Key words:** *SARS CoV-2, pneumonia, type 2 diabetes mellitus, pneumonia, cytokine***Summary**

Coronavirus disease 2019 (COVID-19) is a newly recognized infectious disease caused by severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2), which was recently declared a pandemic. The most vulnerable in these conditions were patients with diabetes mellitus (DM) due to the peculiarities of their immune status and immune response to a viral attack, due to excessively high activity of the virus in conditions of hyperglycemia, due to comorbidity and obesity, which often accompany the course of DM.

The study included 103 patients hospitalized with a diagnosis of SARS-CoV-2 pneumonia and diabetes mellitus in the Bukhara Regional Infectious Diseases Hospital, which was reorganized into the Covid Center 2021-2022. The study of cytokine (IL-4, IL-18) status in the blood of patients was carried out in the laboratory of immunomorphology of the Institute of Human Immunology and Genomics of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan.

The results showed an increase in IL-4 synthesis in patients of all groups in contrast to the control group. The study found an increase in the level of IL-18 in the blood of patients, regardless of the severity of covid pneumonia and the presence of diabetes.

**SARS-CoV-2 ПНЕВМОНИЯ ВА 2-ТИП ҚАНДЛИ ДИАБЕТ БИЛАН  
КАСАЛЛАНГАН БЕМОРЛАРНИНГ ЦИТОКИН ҲОЛАТИ**

Аслонова Маржона Рамазоновна

Абу Али ибн Сино номидаги Бухоро давлат тиббиёт институти

Калит сўзлар: SARS CoV-2, пневмония, 2-тур қандли диабет, пневмония, цитокин

[aslonovam93@gmail.com](mailto:aslonovam93@gmail.com)

**Резюме:** 2020 йилда дунё янги коронавирус SARS CoV-2 кириб келиши билан боғлиқ инсон саломатлиги учун мисли қўрилмаган муаммога дуч



келмоқда. Бу шунингдек дунёning барча мамлакатлари соғлиқни сақлаш тизимлари учун қийинчилик туғдиради. Ушбу шароитларда КД кечишига күпинча қўшилиб келувчи коморбидлик ва семизлик оқибатида гипергликемияда вируснинг ҳаддан ташқари юқори фаоллиги туфайли, ўзининг иммун статусининг ўзига хос хусусиятлари ва вирус ҳужумига иммун жавобига кўра қандли диабет (КД) билан касалланган bemорлар энг заиф bemорлар бўлди.

Тадқиқотда Ковид-марказига айлантирилган Бухоро вилоят юқумли касалликлар шифохонасида SARS-COV-2 пневмонияси билан касалхонага ётқизилган 103 пациент жалб қилинди. Беморлар қонидаги цитокин (ИЛ-4, ИЛ-18) ҳолатини ўрганиш Ўзбекистон Республикаси Фанлар академияси Одам иммунологияси ва геномикаси институтининг иммуноморфология лабораториясида ўтказилди.

Натижалар назорат гурухидан фарқли ўлароқ, барча гурухлардаги bemорларда ИЛ-4 синтезининг о'сишини ко'рсатди. Тадқиқотда ковид пневмониясининг оғирлиги ва КД мавжудлигидан қатъий назар, bemорларнинг қонида IL-18 миқдорининг ошиши аниқланди

### Актуальность:

Коронавирусная болезнь 2019 года (COVID-19), вызванная новым коронавирусом SARS-CoV-2 (коронавирус тяжелого острого респираторного синдрома 2), резко достигла масштабов пандемии. SARS-CoV-2 является членом семейства *бетакоронавирусов*, а также SARS-CoV (коронавирус тяжелого острого респираторного синдрома) и MERS-CoV (коронавирус, связанный с ближневосточным респираторным синдромом). С начала 2020 года число подтвержденных случаев COVID-19 во всем мире резко возросло и к марта 2020 года превысило миллион[18]. Хотя у большинства пациентов с COVID-19 развиваются клинические признаки от легкой до умеренной[14], могут развиться тяжелая пневмония, острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС) и полиорганная недостаточность, приводящие к высокой смертности. Примечательно, что в распространенности и прогнозе COVID-19



появились заметные половые различия. В частности, сообщается, что возрастной риск заболевания значительно выше у мужчин, чем у женщин, за исключением лиц моложе 50 лет. Более того, возрастные риски смерти и госпитализации как минимум в два раза выше у мужчин, чем у женщин во всех возрастных диапазонах[5]. Диабет представляет собой одно из наиболее распространенных хронических заболеваний во всем мире и значительно увеличивает риск госпитализации и смерти пациентов с COVID-19[16]. Сахарный диабет 2 типа (СД2) и ожирение являются независимыми факторами риска повышения заболеваемости и смертности, связанных с гриппом и инфекцией SARS-CoV-2. Нарушенный клеточный метаболизм формирует воспалительную реакцию и функцию иммунных клеток при ожирении, СД2 и инфекциях. Однако измененная реактивность иммунных клеток и уровни системных провоспалительных медиаторов, частично не зависящие от вклада периферических иммунных клеток, связаны с тяжестью заболевания, связанного с SARS-CoV-2. Несмотря на такие знания, роль тканевых паренхиматозных клеточных воспалительных реакций, особенно тех, которые доминантно модифицируются при ожирении (например, адипоциты), в патогенезе гриппа и инфекции SARS-CoV-2 остается плохо определенной[11].

### **Материалы и методы:**

В исследование было включено 103 пациентов, госпитализированных по поводу SARS-COV-2 пневмонии в Бухарской областной инфекционной больнице, которую переорганизована в Ковид-центр. Из всех госпитализированных по поводу SARS-COV-2 пневмонии на фоне СД 2-типа, больных с тяжелой формой пневмонии составило -35 (1-группа), со средней тяжестью- 33 (2-группа). Группу сравнения (3-группа) составили 35 пациентов с SARS-COV-2 пневмонией не страдающих СД. Контрольную группу составили 30 здоровых людей соответствующего возраста.

Средний возраст больных 1-группы составил  $60,2 \pm 2,2$  года, у пациентов 2-группы- $50,0 \pm 2,0$  года, а в группе сравнения- $52,4 \pm 2,0$  года.



В контроле средний возраст составил  $54,0 \pm 2,0$  года.

Среднее время пребывания в стационаре составило у пациентов: 1-группы- $8,7 \pm 0,47$  дней, 2-группы - $6,4 \pm 0,26$  дней, 3-группы- $10,6 \pm 0,45$  дней.

Иммунологические исследования крови больных проводились в лаборатории иммуноморфологии института иммунологии и геномики человека АН РУз. Изучены показатели цитокиннового (ИЛ-4, ИЛ-18) статуса в крови.

### Результаты.

Согласно приведенным в обзоре исследованиям, частота тяжелого течения COVID-19 была в 1,3–3,9 раз выше, а частота летальных исходов в 1,5–4,4 раза выше у людей с СД по сравнению с людьми без СД. Только что опубликованный метаанализ 30 исследований, описывающий исходы пневмонии COVID-19, подтверждает, что у больных СД отмечаются значимо более высокие риски тяжелого течения заболевания ( $RR=2,45$ ; 95% ДИ 1,79–3,35;  $p<0,001$ ), более частое развитие острого респираторного дистресс-синдрома ( $RR=4,64$ ; 95% ДИ 1,86–11,58;  $p=0,001$ ) и более высокая смертность ( $RR=2,12$ ; 95% ДИ 1,44–3,11;  $p<0,001$ ), чем у лиц без СД[6].

ГК являются мощными регуляторами воспаления. В воспаленной ткани они взаимодействуют с макрофагами и подавляют синтез эйкозаноидов, которые являются медиаторами, вызывающими расширение сосудов и повышение их проницаемости. ГК ингибируют экспрессию многих провоспалительных цитокинов, включая интерлейкины (IL) IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-11, IL-12, IL-13, IL-16, IL-17, интерферон- $\gamma$  (IFN $\gamma$ ), фактор некроза опухолей (TNF), а также ослабляют передачу сигнала от цитокинового рецептора. ГК инициируют программы генов в моноцитах и макрофагах, которые способствуют фагоцитозу «умерших» клеток и остального клеточного мусора. Все эти эффекты ГК подробно освещены в обзоре Petrillo и соавт[12].

Общеизвестно, что СД оказывает влияние на многие системы организма, в том числе и иммунную, однако данных с описанием конкретных



иммунологических механизмов, приводящих к нарушению течения репаративных процессов при СД, на сегодняшний день недостаточно[9].

Дисрегуляция воспалительной фазы[1,3,10] часто встречающийся дефект в процессе заживления диабетических язв, который характеризуется поздним образованием, но длительной персистенцией воспалительного инфильтрата[4].

Для ран при СД характерно изменение уровней экспрессии провоспалительных цитокинов, таких как фактор некроза опухоли-α, интерлейкин 1 (ИЛ1), ИЛ6, ИЛ8 и, по-видимому, разная регуляция их секреции на ранних и более поздних этапах заживления ран, с преобладанием избыточной экспрессии в позднюю воспалительную фазу[7,2].

Имеются немногочисленные данные о возможном влиянии ИЛ4 на течение репаративных процессов в ране[13,8].

Учитывая тяжесть коронавирусной инфекции у пациентов с СД 2-типа, для оценки цитокинового статуса проводили исследование по определению уровня IL-4 и IL-18 в крови.

Результаты показали повышение синтеза IL-4 у пациентов всех групп против контроля,  $p<0,05$  (табл.2).

### Таблица 1

#### Содержание цитокинов в крови

показатели		IL-4 (pg/ml)	IL-18 (pg/ml)
группа контроля	min-max	4,4-22,64	45,5-110,2
	среднее	$11,21 \pm 1,13$	$26,5 \pm 0,56$
1-группа	min-max	7,48- 48,64	90,36-213,01
	среднее	$21,7 \pm 1,7 *$	$118,09 \pm 5,5 ***$
2-группа	min-max	12,47-46,71	75,41-186,1
	среднее	$24,63 \pm 2,75 *$	$102,9 \pm 2,73 ***$
3-группа	min-max	6,85-46,81	21,0-99,0
	среднее	$16,9 \pm 1,73 *$	$70,5 \pm 5,5 *$

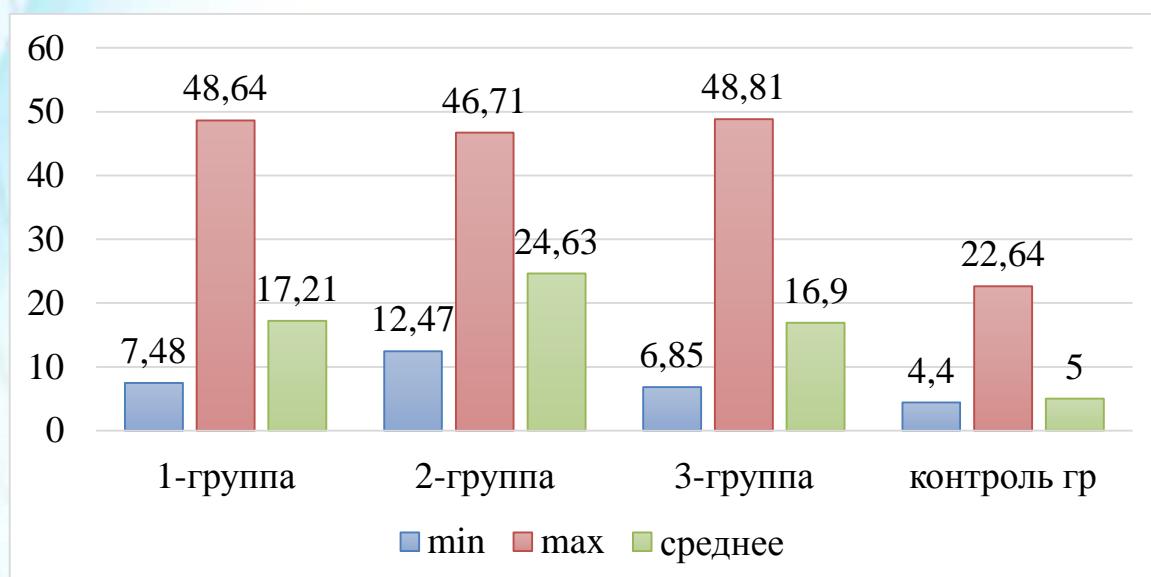
Примечание: \*-достоверно по отношению к группе контроля

(\*- $p<0,05$ , \*\*  $p<0,01$ , \*\*\*  $p<0,001$ )

IL-4- является провоспалительным цитокином и вырабатывается в ранний период воспаления в ответ на внедрение в организме микробов и вирусных инфекций.

ИЛ4 в высокой концентрации (50 пг/мл) достоверно увеличивает процент жизнеспособных фибробластов при совместном культивировании клеток кожи с мононуклеарами и сывороткой крови пациентов с СД 2 типа и СД 2 типа с хроническими язвами стоп[20].

Таким образом, установлено достоверное повышение синтеза IL-4 у пациентов с СД 2-типа, что не зависит от степени тяжести коронавирусной пневмонии и наличия СД, рис.2.



**Рисунок 1. Интерлейкин-4 в группе обследованных больных**

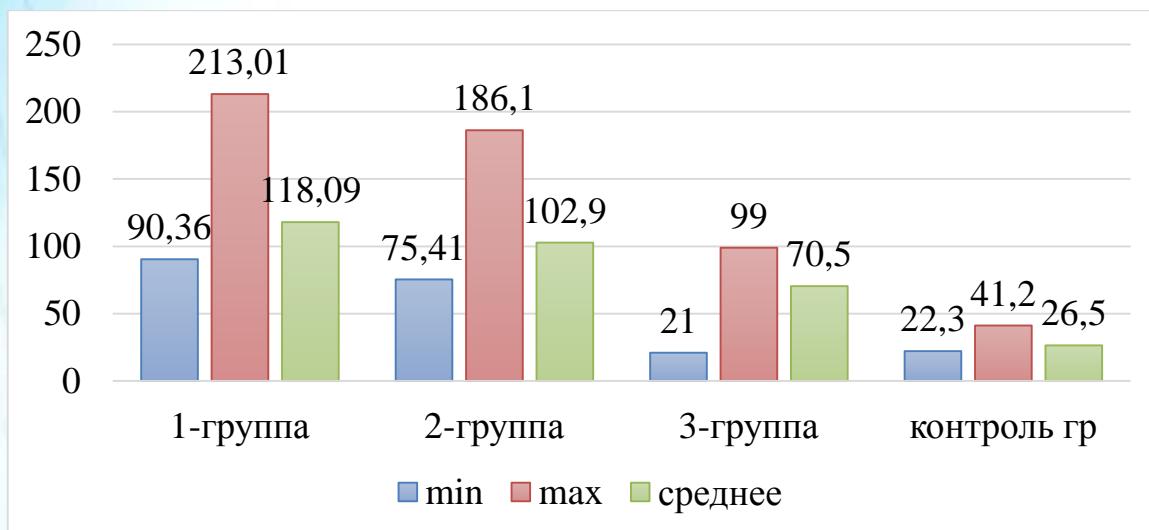
Полученный результат можно констатировать как результат компенсаторной ответной реакции иммунной системы на вирусную инфекцию при СД 2-типа.

Известно, что IL-18- провоспалительный цитокин 1-го типа, оказывает угнетающее действие на продукцию инсулина бета-клетками поджелудочной железы, в то время как другие, в основном антивоспалительные -2-го типа (IL-4)- оказывает защитное антидиабетическое действие[17].

IL-18 – негликозилированный полипептид, у которого нет классической сигнальной последовательности. Он синтезируется в виде неактивного

пропептида с м.м. 24 кДа. После протеолитического расщепления под воздействием ICE (интерлейкин-1 $\beta$  преобразующего энзима) или другой каспазы образуется зрелый активный пептид с м.м. 18 кДа. IL-18, также известный как IFN- $\gamma$ -индуцирующий фактор (IGIF), первично был охарактеризован как потенциальный индуктор синтеза IFN- $\gamma$  Т и NK клетками. Независимо от IL-12, IL-18, влияя на секрецию IFN- $\gamma$ , быстро активирует клетки моноцитарно/макрофагальной системы, что ведет к активации множества антибактериальных, антиопухолевых и антивирусных ответных реакций.

В исследовании установлено повышение уровня IL-18 в крови у пациентов не зависимо от степени тяжести ковид пневмонии и наличия СД (рис.2).



**Рисунок 2. Состояние синтеза интерлейкина-18 у больных с коронавирусной пневмонией**

Имеются данные мировой литературы о том, что сам IL-18 индуцируется стрессовыми сигналами (нейрогенными или бактериального происхождения). Считается, что индуцированное стрессом высвобождение IL-18 может вести к усилению цикла IFN- $\gamma$ /IL-18: вслед за первой волной образования IFN- $\gamma$  лимфоцитами, индуцированного IL-18, вновь синтезированный IFN- $\gamma$ , в свою очередь, стимулирует моноциты/макрофаги, что ведет к увеличению их ICE-активности которая, в частности, приводит к образованию IL-18.



IL-18 не только стимулирует синтез IFN- $\gamma$ , но и модулирует его функциональную активность. Показано, что экспрессия Fas-лиганды Tx1 и NK-клетками также происходит под влиянием IL-18.

С другой стороны, показано, что IFN- $\gamma$  участвует в активации экспрессии самого Fas. Таким образом, можно сделать вывод, что IL-18 самостоятельно (FasL) или посредством IFN- $\gamma$  (Fas) стимулирует инициализацию процессов апоптоза.

В наших исследованиях состояние цикла IFN- $\gamma$ /IL-18 у всех пациентов группы обследования было неэффективным, сниженным, (табл.3).

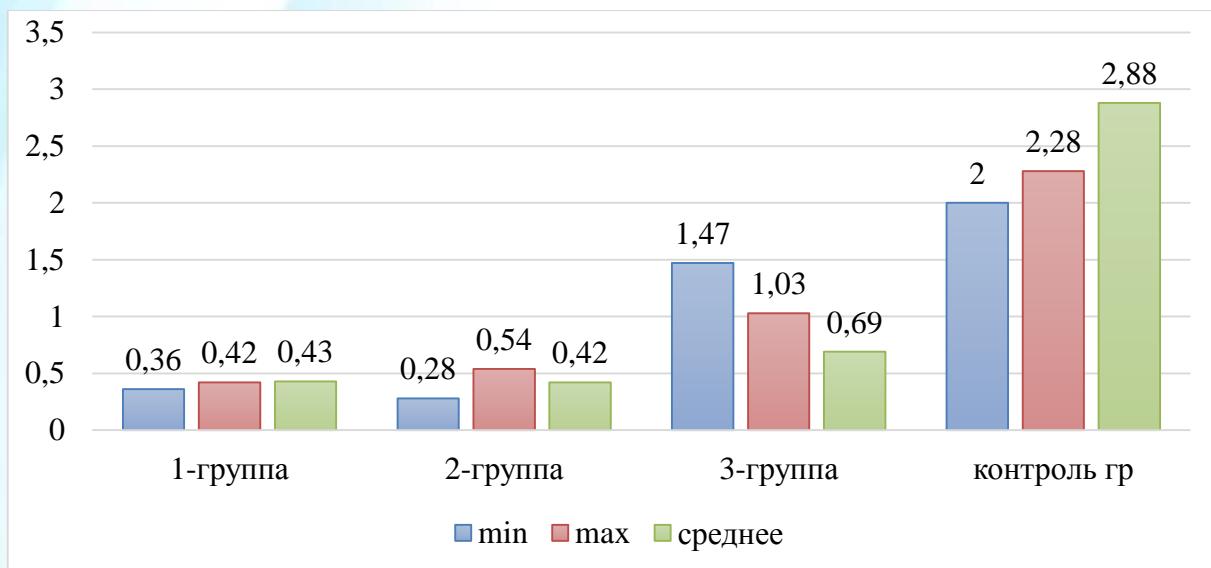
**Таблица 2**

**Состояние цикла IFN- $\gamma$ /IL-18**

показатели		IFN- $\gamma$ (pg/ml)	IL-18 (pg/ml)	IFN- $\gamma$ /IL-18
группа контроля	min-max	45,5-94,2	22,3-41,2	2,0-2,28
	среднее	76,5±0,56	26,5±0,56	2,88
1-группа	min-max	33,26-88,69	90,36-213,01	0,36-0,42
	среднее	50,96±2,85*	118,09±5,5***	0,43
2-группа	min-max	21,2-101,34	75,41-186,1	0,28-0,54
	среднее	42,7± 2,79**	102,9± 2,73***	0,42
3-группа	min-max	30,94-102,2	21,0-99,0	1,47-1,03
	среднее	48,97±2,75*	70,5±5,5*	0,69

Примечание: \*-достоверно по отношению к группе контроля (\*- $p<0,05$ , \*\* $p<0,01$ , \*\*\*  $p<0,001$ )

Выявили более глубокое снижение цикла IFN- $\gamma$ /IL-18 у пациентов с СД 2-типа (1-и2-группа), рис.3.



**Рисунок 3. Состояние цикла IFN- $\gamma$ /IL-18 при коронавирусной пневмонии**

Доказан, IL-18 будет стимулировать продукцию IFN- $\gamma$  и инициировать развитие ответов Th-1, который направлен на немедленное удаление патогена.

**.Заключение.**

Таким образом, установлено достоверное повышение синтеза IL-4 у пациентов с СД 2-типа, что не зависит от степени тяжести коронавирусной пневмонии и наличия СД.

С учетом выше приведенных данных, полученные результаты наших исследований позволяют определить зависимость состояния цикла IFN- $\gamma$ /IL-18 от наличия хронических воспалительных и аутоиммунных заболеваний.

Следовательно, если у пациентов 1-й и 2-й группы низкий цикл IFN- $\gamma$ /IL-18 показывает зависимость от наличия СД 2-типа, а у пациентов 3-й группы (с коронавирусной пневмонией без сахарного диабета) снижение цикла IFN- $\gamma$ /IL-18 связано с использованием ГК для лечения и высоким риском развития СД 2-типа.

Таким образом, изучение интерферонового и цитокинового статуса у больных с коронавирусной инфекцией на фоне СД 2-типа показало зависимость исхода заболевания от мультифакторов:

- наличие СД и хронических неинфекционных заболеваний других органов;
- срока употребления антидиабетических препаратов;



- глюкокортикоидотерапии.

### ЛИТЕРАТУРА:

1. Baltzis, D. Pathogenesis and Treatment of Impaired Wound Healing in Diabetes Mellitus: New Insights / D. Baltzis, I. Eleftheriadou, A. Veves // Advances Therapy. – 2014. – Vol. 31, № 8. – P. 817-836. – doi: 10.1007/s12325-014-0140-x.
2. Diabetes Impairs the Late Inflammatory Response to Wound Healing / T. J. Fahey [et al.] // The Journal of Surgical Research. – 1991. – Vol. 50, № 4. – P. 308-313. – doi: 10.1016/0022-4804(91)90196-s
3. Effects of Acute Diabetes on Rat Cutaneous Wound Healing / M. C. Komesu [et al.] // Pathophysiology. – 2004. – Vol. 11, № 2. – P. 63-67. – doi: 10.1016/j.pathophys.2004.02.002.
4. Effects of Acute Diabetes on Rat Cutaneous Wound Healing / M. C. Komesu [et al.] // Pathophysiology. – 2004. – Vol. 11, № 2. – P. 63-67. – doi: 10.1016/j.pathophys.2004.02.002
5. Giorgi Rossi P, Marino M, Formisano D, Venturelli F, Vicentini M, Grilli R, The Reggio Emilia COVID-19 Working Group (2020) Characteristics and outcomes of a cohort of SARS-CoV-2 patients in the Province of Reggio Emilia, Italy. <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.04.13.20063545v1>. Accessed May 25 2020 [PMC free article] [PubMed]
6. Huang I, Lim MA, Pranata R. Diabetes mellitus is associated with increased mortality and severity of disease in COVID-19 pneumonia – a systematic review, meta-analysis, and meta-regression. *Diabetes Metab Syndr*. 2020;14(4):395–403. doi: <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2020.04.018>
7. Interleukin 6 Function in the Skin and Isolated Keratinocytes Is Modulated by Hyperglycemia / E. G. Lee [et al.] // Journal of Immunology Research. – 2019. – № 5087847. – P. 1-9. – doi: 10.1155/2019/5087847.
8. Implication of Interleukin-4 in Wound Healing / V. Salmon-Her [et al.] // Laboratory Investigation. – 2000. – Vol. 80. – P. 1337-1343. – doi: 10.1038/labinvest.3780141.



9. Interleukin 6 Function in the Skin and Isolated Keratinocytes Is Modulated by Hyperglycemia / E. G. Lee [et al.] // Journal of Immunology Research. – 2019. – № 5087847. – P. 1-9. – doi: 10.1155/2019/5087847
10. Mirza, R. Dysregulation of Monocyte/Macrophage Phenotype in Wounds of Diabetic Mice / R. Mirza, T. J. Koh // Cytokine. – 2011. – Vol. 56, № 2. – P. 256-264. – doi: 10.1016/j.cyto.2011.06.016.]
11. Michelle S M A Damen, Pablo C Alarcon, Amy S Shah, Senad Divanovic Greasing the inflammatory pathogenesis of viral pneumonias in diabetes Obes Rev 2022 May;23(5):e13415. doi: 10.1111/obr.13415. Epub 2022Jan5
12. Petrillo MG, Bortner C, Cidlowski JA. Glucocorticoids: inflammation and immunity. *The HypothalamicPituitary-Adrenal Axis in Health and Disease.* 2017;43-63.doi: <https://doi.org/10.1007/978-3-319-45950-9>
13. Stabilized Interleukin-4-Loaded Poly(lactic-co-glycolic) Acid Films Shift Proinflammatory Macrophages toward a Regenerative Phenotype in vitro / A. M. Ziembra [et al.] // ACS Applied Bio Materials. – 2019. – Vol. 2, № 4. – P. 1498-1508. – doi: 10.1021/acsabm.8b00769.
14. Salvatore Corrao, Karen Pinelli, Martina Vacca, Massimo Raspanti, Christiano Argano Type 2 Diabetes Mellitus and COVID-19: A Narrative Review, Front Endocrinol (Lausanne) 2021 Mar 31;12:609470. doi: 10.3389/fendo.2021.609470. eCollection 2021
15. World Health Organization Naming the coronavirus disease (COVID-19) and the virus that causes it [EB/OL] 2020-02-11.[https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/naming-the-coronavirus-disease-\(covid-2019\)-and-the-virus-that-causes-it](https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/naming-the-coronavirus-disease-(covid-2019)-and-the-virus-that-causes-it) [Ref list]
16. Xu XW, Wu XX, Jiang XG, Xu KJ, Ying LJ, Ma CL, Li SB, Wang HY, Zhang S, Gao HN, Sheng JF, Cai HL, Qiu YQ, Li LJ. Clinical findings in a group of patients infected with the 2019 novel coronavirus (SARS-CoV-2) outside of Wuhan, China: retrospective case series. BMJ. 2020;368:m606. doi: 10.1136/bmj.m606. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]



17. Быков И.М., Ивченко Л.Г., Доменюк Д.А., Костюкова Н.Ю., Сторожук А.П., Илиджев Д.М. Уровень провоспалительных саливарных цитокинов у детей с аутоиммунным сахарным диабетом в различные фазы компенсации эндокринопатии. Кубанский научный медицинский вестник. 2017; 24(4): 39-48. DOI: 10.25207/1608-6228-2017-24-4-39-48.
18. Всемирная организация здравоохранения (2018 г.) Глобальный доклад о диабете. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>. По состоянию на 17 марта 2020 г.
19. Демидов Н.А., Андреева А.В., Анциферов М.Б. Сахарный диабет и COVID-19 в Москве: статус 2020 г. // Эндокринология: новости, мнения, обучение. 2021. Т. 10, № 2. С. 32–40. DOI: <https://doi.org/10.33029/2304-9529-2021-10-2-32-40>
20. Машкова, М. А. Протективный эффект интерлейкина 4 на фибробласты в 3D-клеточной модели взаимодействия между клетками кожи и иммунными клетками пациентов с сахарным диабетом 2 типа и сахарным диабетом 2 типа с хроническими язвами стоп / М. А. Машкова, Т. В. Мохорт, В. А. Горанов // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. 2020. Т. 18, № 4. С. 410-416. [http:// dx.doi.org/10.25298/2221-8785-2020-18-4-410-416](http://dx.doi.org/10.25298/2221-8785-2020-18-4-410-416)